

- prélever une colonie de *Saccharomyces ade* et la mettre en suspension dans 10 mL d'eau physiologique.
- Dénombrer les levures par comptage au microscope en cellule de Malassez. Procéder à 2 dénombrements.
- Préparer par dilution en eau physiologique une suspension de titre 2.10^3 cellules par mL.
- Préparer 10 boîtes de milieu complet pauvre en adénine.
- Sur deux de ces boîtes étaler 100µL de cette suspension à 2.10^3 levures par mL: Témoins.
- Sur les 8 autres boîtes déposer 100 µL de la même suspension de levures et les irradier par les UV pendant des temps croissants : 2s, 4s, 6s, 10s, 30s 60s, 2 min, 3 min. **Puis étaler rapidement les 100µL.**
- **ATTENTION procéder boîte par boîte, déposer les 100µL juste avant l'irradiation.**
- Incuber ces boîtes 48 heures à 30°C.

LECTURE :

-  Diverses mutations ont des effets « supresseurs » vis à vis des mutations *ade1* ou *ade2* et font disparaître le phénotype rouge :
1. Toute mutation dans un gène situé en amont de *ade1* ou *ade2* dans la chaîne de biosynthèse de l'adénine empêche l'accumulation du pigment rouge et les colonies recouvrent la couleur crème habituelle.
 2. Toute mutation empêchant la respiration (*p-*) empêche également la formation du pigment rouge qui dépend du métabolisme aérobie. Toutefois, ces colonies sont plus petites et plus blanches que les précédentes qui respirent (voir 2-1). Il est donc possible d'identifier ces mutations en observant attentivement les colonies mutantes.
 3. Une mutation « réverse » rétablissant le bon fonctionnement du gène *ade* ne sera pas détectable directement parmi les mutants supresseurs.

Tracer les graphes suivants

- Nombre de clones = f (temps exposition UV)
- pourcentage de clones blancs = f (temps d'exposition UV)

INTERACTIONS ENTRE METABOLISME AEROBIE ET PIGMENTATION

- Préparer deux boîtes de milieu complet pauvre en adénine.
- Etaler sur chacune d'elle 100 μ L de suspension de *Saccharomyces ade* à $2 \cdot 10^3$ levures par mL.
- Sur l'une des deux boîtes couler une double couche à l'aide de 9 mL de milieu complet pauvre en adénine stérile.
- incubé 48 h à 30 °C.
- Après incubation décrire les colonies obtenues sur les deux milieux et conclure.

